Über die Ermittlung des Verdorbenheitsgrades bei Fleisch, Wurst, Fisch und Fetten und Oelen

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
ZU FRANKFURT AM MAIN

vorgelegt von

Helmut Kirchberg

aus Friedberg/H.

1937

Dissertations-Druckerei F. W. Kalbfleisch in Gelnhausen.

Referent: Dr. phil. habil. R. Strohecker.

Korreferent: Professor Dr. H. Dieterle.

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Juni 1937.



Meinen Eltern!

Inhaltsverzeichnis.

Seite

A. Einleitung und Überblick über die bisherige Literatur . 5

B. Die Ermittlung des Verdorbenheitsgrades bei Fleisch, Wurst, Fisch und Fetten und Oelen 8

I. Nachweis der beginnenden Fleischfäulnis durch das Erfassen flüchtiger Bestandteile 8

Ausarbeitung einer auf der Oxydation der flüchtigen Bestandteile beruhenden Methode 8

II. Anwendung der Oxydationsmethode bei der Untersuchung von Würsten 15

III. Anwendung der Oxydationsmethode bei Fischen . . 17

IV. Nachweis verdorbener Fette durch Bestimmung der Oxydations- und Chlorzahlen 20

Arbeitsvorschriften für die beiden angegebenen Methoden bei Fetten und Oelen 22

Oxydationsmethode 22

Chlorzahlmethode 22

C. Zusammenfassung 26

A. Einleitung und Überblick über die bisherige Literatur.

Für den Lebensmittelchemiker ist es oft von großer Wichtigkeit, die beginnende Zersetzung eines Lebensmittels mit objektiven chemischen Methoden festzustellen, und zwar schon dann, wenn äußerlich, also durch Geruch oder Geschmack, eine Verderbnis noch nicht erkennbar ist.

Besonders zahlreich finden wir in der Literatur Arbeiten über die Nachweise einer beginnenden Fleischfäulnis. Die Methoden lassen sich einteilen in

1. Geruchsprüfungen,
2. chemische,
3. physikalische und
4. bakteriologische Methoden.

Die Geruchsprüfungen haben natürlich nur einen sehr geringen Wert, da durch den Geruch nur eine weiter fortgeschrittene Zersetzung festzustellen ist. Mit den chemischen Methoden werden die Abbauprodukte erfaßt, die bei der Fleischfäulnis durch die Spaltung des Eiweißes entstehen. Die physikalischen Methoden stützen sich hauptsächlich auf die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration beim Verderben des Fleisches. Die bakteriologischen Methoden beruhen auf der Tatsache, daß die Bakterien die Hauptursache der Fleischfäulnis sind. Durch Feststellung der Menge der vorhandenen Bakterien soll auf den Frischezustand des Fleisches geschlossen werden.

Zu den chemischen Methoden gehört das 1897 vorgeschlagene Verfahren, das sich auf den Nachweis von Indol, Skatol, Phenolen und aromatischen Oxysäuren stützt (1), und die Reaktion von Eber (2), mit der vorhandenes Ammoniak erfaßt wird. Beide Methoden waren ganz ungeeignet, da sie nur bei fortgeschrittener Zersetzung positiv waren. C. Mai (3) schloß in seiner Arbeit aus dem Verhältnis von Ammoniak zu Gesamt-Stickstoff auf eine beginnende Fäulnis, aber von J. Tillmans und H. Mildner (4) wurde diese Ansicht als falsch erklärt, auch R. Herzner (5) konnte die Angaben C. Mais nicht bestätigen. Der Nachweis der Bernsteinsäure, der von Wolff (6) vorgeschlagen wurde, zeigte nur eine fortgeschrittene Zersetzung an. O. Fürth und E. Lenk (7) wollten eine Methode auf die Aenderung des Milchsäuregehaltes gründen, eine Nachprüfung verlief jedoch ergebnislos. Die von Chodat (8) angegebene Methode, die sich auf der

Einwirkung von Tyrosinase auf Eiweiß, Peptide und Polypeptide aufbaute, war praktisch nicht verwertbar. Die Formoltitration nach Sörensen lieferte, wie J. Tillmans und H. Mildner und später auch J. Tillmans, R. Strohecker und W. Schütze (9) zeigten, nur bei fortgeschrittener Fäulnis brauchbare Werte. D. Ottolenghi (10) arbeitete eine bakteriologische Methode aus. Die Zahl der Bakterien, die bei frischem Fleisch ganz klein ist, wird bei der Zersetzung immer größer. Aus der Anzahl der vorhandenen Bakterien mußte also auf eine mehr oder weniger weit fortgeschrittene Zersetzung des Fleisches zu schließen sein. J. Tillmans und H. Mildner zeigten dann, daß die Erfassung der Bakterien, die D. Ottolenghi durch das schwierige und zeitraubende Auszählverfahen durchgeführt hatte, mit chemischen Methoden leichter und sicherer zu bewerkstelligen sei. Erfaßt wurden dabei die Bakterienarten, die den im Wasser vorhandenen Sauerstoff aufzehrten. Die Verfasser versetzten in Winklerschen Sauerstofflaschen verschiedene Fleischproben mit Leitungswasser, dessen Sauerstoffgehalt festgetellt wurde. Die Flaschen wurden im Brutschrank bei 37⁰ bebrütet. In gleichmäßigen Zeitabständen wurde je eine Flasche entnommen und der Sauerstoffgehalt ermittelt. Aus der Zeit, die die Bakterien brauchten, um allen Sauerstoff aufzuzehren, schlossen die Verfasser auf die Menge der vorhandenen Bakterien und daraus auf den Frischezustand des Fleisches. Der Nachteil der Methode war, daß nur eine kleine Bakteriengruppe erfaßt wurde. Verschiedene Fleischproben werden natürlich von wechselnden Mengen gerade dieser Bakterienarten befallen. Dadurch wird die Methode ungenau.

J. Tillmans, R. Strohecker und W. Schütze verbesserten deshalb die Methode und ergänzten sie durch zwei weitere Verfahren, die andere Bakterienarten erfassen, nämlich solche, die Nitrat, und solche, die Methylenblau zur Leukoverbindung reduzieren. Dadurch, daß nun 3 Bakteriengruppen erfaßt werden, ist die Zufälligkeit der Methode von J. Tillmans u. H. Mildner wenigstens teilweise ausgeschaltet.

Eine weitere chemische Methode arbeitete H. Riffart (11) aus, der versuchte, durch Bestimmung des Aminosäurestickstoffs mit der von ihm ausgearbeiteten Ninhydrinmethode auf eine beginnende Fleischfäulnis zu schließen. Er kommt aber nicht zu eindeutigen Ergebnissen.

Zu den physikalischen Methoden gehört das Verfahren von R. Herzner und O. Mann (5), die aus der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration auf den Verdorbenheitsgrad des Fleisches schließen. J. Tillmans, P. Hirsch und A. Kuhn (12) veröffentlichen dann eine Arbeit, die als brauchbare Methode die Titration des Destillats aus dem verdünnten, angesäuerten, oder alkalisch gemachten Eisenserum des Fleisches angibt. Ergänzt wurde diese Arbeitsvorschrift

durch Feststellung des Molekulargewichtes des zur Trockne eingedampften Destillats, weiterhin durch Prüfung des Geruchs, der beim Behandeln des Abdampfrückstandes mit verdünnter Schwefelsäure entstand. Ein weiteres Verfahren zur Erkennung einer beginnenden Fleischfäulnis wird von Walkiewicz (13) veröffentlicht. Die Methode besteht darin, daß 2—3 Tropfen eines klar filtrierten Fleischauszugs einmal mit 3—4 ccm einer 1‰igen Sublimatlösung, und dann mit 3—4 ccm einer mit 0,05 ccm Essigsäure versetzten Sublimatlösung zusammengebracht werden. Bei verdorbenem Fleisch, welches ein p_H von über 6,2 aufweist, soll in beiden Mischungen eine wolkige Trübung entstehen.

A. Zwilling (13) bringt eine Zusammenstellung der in letzter Zeit erschienenen Arbeiten. Er kommt zu der Feststellung, daß als geeignet für die Beurteilung des Frischezustandes eines Fleisches die Ausführung der Magnesiaprobe, der Benzidinreaktion und der Nessler-Reaktion ist. Außerdem soll noch eine bakteriologische Untersuchung ausgeführt werden. Auch J. Tillmans hatte schon darauf hingewiesen, daß eine Methode allein nie ausreicht, um eine Verdorbenheit mit Sicherheit nachzuweisen, da es sich um bakterielle Zersetzungen handelt, bei denen nie gewiß ist, welche Bakterienarten eine Rolle spielen.

Für den Nachweis einer beginnenden Fäulnis bei Fischen kennen wir, abgesehen von der Geruchsprüfung, nur eine Methode, die brauchbare Werte ergibt, und zwar die von J. Tillmans und R. Otto (15), die sich auf eine Veränderung des Gehaltes an Ammoniak und des Aminosäurestickstoffs stützt. Die Methode wird später näher besprochen.

Für den Nachweis der Zersetzung von Fetten machte man sich die Eigenschaft der Fette zunutze, daß sie beim Verderben Sauerstoff in Form peroxydischer Verbindungen anlagern. Bei den Methoden von Lea (16) und Gangl und Rumpel (17) wird diese Sauerstoffanlagerung quantitativ erfaßt. Beide Verfasser benutzen die Reaktion der Peroxyde, in saurer Lösung aus Jodkalium Jod frei zu machen. A. Tenner (18) benutzt zur Bestimmung der Peroxyde deren Eigenschaft, in saurer Lösung vierwertig vorliegendes Titan zum sechswertigen zu oxydieren. Die auftretende Färbung kann im Stufenphotometer gemessen werden. Derselbe Autor arbeitete eine zweite Methode zur Bestimmung der Verdorbenheit der Fette aus, die auf der Bestimmung der flüchtigen Bestandteile beruhte. Die Arbeitsweise soll später noch besprochen werden.

Alle bisher besprochenen Methoden, besonders die, die eine beginnende Fleischfäulnis nachweisen sollen, haben sich, von wenigen Ausnahmen abgesehen, in der Praxis nicht bewährt. Es sollte deshalb die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sein, eine Methode auszuarbeiten, die mit chemisch einwandfreien Mitteln klar erkennen läßt, ob eine zur

Untersuchung gelangende Fleisch- bzw. Wurst-, Fisch-, Oel- oder Fettprobe noch frisch ist oder sich schon im Zustand einer beginnenden Zersetzung befindet.

B. Die Ermittlung des Verdorbenheitsgrades bei Fleisch, Wurst, Fisch und Fetten und Oelen.

I. Nachweis der beginnenden Fleischfäulnis durch das Erfassen flüchtiger Bestandteile.

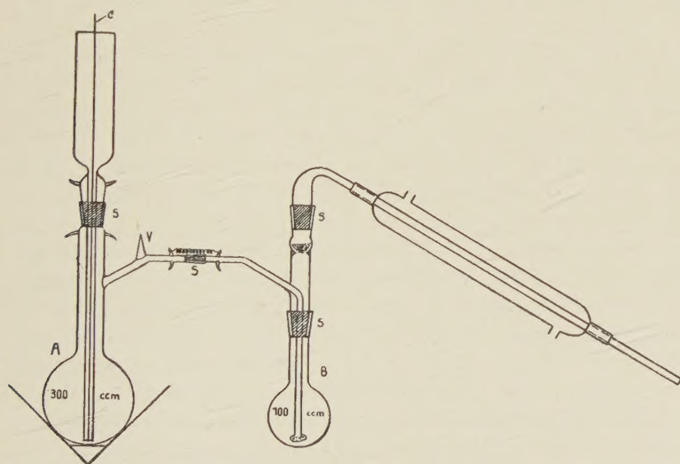
Die Zersetzung bzw. Fäulnis des Fleisches beruht, wie schon in der Einleitung gesagt, in erster Linie auf einem Abbau des Eiweißes, der durch Bakterien bewirkt wird. Es entstehen also zunächst Peptone und Aminosäuren, dann durch tiefer gehende Spaltungen durch Abbau der Aminosäuren Ammoniak, Fettsäuren und Kohlensäure.

Es wurde nun festgestellt, daß der Gehalt an niedermolekularen Fettsäuren und sonstigen reduzierenden organischen Stoffen bei der Fleischfäulnis gleichmäßig zunimmt. Wenn man also diese organischen Stoffe quantitativ erfassen kann, muß darauf eine Methode zu gründen sein, mit der festzustellen ist, wie weit die Zersetzung des betreffenden Fleisches fortgeschritten ist. Brauchbar kann diese Methode natürlich nur dann sein, wenn bei frischem Fleisch annähernd gleiche Werte erhalten werden, und wenn die Werte für frisches und verdorbenes Fleisch weit auseinander liegen. Im Verlauf der vorliegenden Arbeit konnte festgestellt werden, daß diese Voraussetzungen gegeben sind.

Ausarbeitung einer auf der Oxydation der flüchtigen Bestandteile beruhenden Methode. Die organischen Stoffe, die quantitativ erfaßt werden sollten, sind mit Wasserdampf flüchtig. Von Issoglio (19) kennen wir ein Verfahren zur Bestimmung der flüchtigen Stoffe, das von A. Tenner für Fette neu bearbeitet worden war. Die Methode beruht darauf, daß mittels Wasserdampfs aus einer bestimmten Menge Fett die flüchtigen Bestandteile abdestilliert werden, und diese im Destillat durch Titration mit einer n/100 $KMnO_4$-Lösung bestimmt werden. Dieses Verfahren wurde von mir zur Feststellung des Verdorbenheitsgrades von Fleisch herangezogen. Es stellt im Gegensatz zu den bisher erwähnten Verfahren eine Methode dar, die auf neuer Grundlage beruht und vor allen Dingen versucht, die in der Sinnesprobe zum Ausdruck kommenden Faktoren chemisch festzulegen.

Ich ging bei allen Versuchen von Hackfleisch aus, das ich entweder frisch gemahlen vom Metzger bezog oder aus einem größeren Stück selbst herstellte. Der Grund für die Verwendung von Hackfleisch war der, daß hierbei die Zersetzung ziemlich gleichmäßig durch die ganze Masse hindurch erfolgt, während bei der Aufbewahrung größerer Fleischstücke die Schwierigkeit auftritt, daß die Oberfläche eintrocknet; dadurch wird eine Schutzschicht gebildet, die das Innere längere Zeit vor dem Verderben schützt. Deshalb kann man nur sehr schwer die erforderlichen Durchschnittsproben erhalten. Aufbewahrt wurde das Hackfleisch offen oder in Schraubdeckelgläsern bei verschiedenen Temperaturen. Die Entnahme der Proben wurde so vorgenommen, daß zunächst mit einem Nickelspatel die Fleischmasse gut durchgemischt wurde und dann 10 g davon in den Kochkolben der verwendeten Destillierapparatur gebracht wurden.

Der Destillationsapparat, der zu allen Versuchen verwandt wurde, war ganz ohne Kork- und Gummiverschlüsse gebaut, da sich gezeigt hatte, daß bei Verwendung von Kork- oder Gummistopfen organische Stoffe ins Destillat gelangten, die schon einen verhältnismäßig hohen Permanganatverbrauch bewirkten.



Der Apparat, (s. Abb.) besteht aus: 1. dem Kolben A, der zur Entwicklung des Wasserdampfes dient. Er trägt ein eingeschliffenes Steigrohr, durch das die Kapillare C bis auf den Boden des Kolbens führt. 2. besteht er aus dem Kochkolben B, der zur Aufnahme der zu untersuchenden Substanz dient, 3. einem auf dem Kochkolben ruhenden Aufsatz, der die Verbindung mit dem Kolben A herstellt, und 4. einem

Kühler, der durch Schliff mit dem Aufsatz auf dem Kochkolben verbunden ist.

Eine gewisse Schwierigkeit entstand dadurch, daß infolge der vorhandenen Eiweißstoffe beim Durchleiten des Wasserdampfes ein starkes Schäumen auftrat, bei dem der Schaum mit in das Destillat überging. Besonders wurde das Schäumen dadurch bedingt, daß die Wasserdampfentwicklung im Kolben A nicht gleichmäßig, sondern stoßweise vor sich ging. Um nun ein gleichmäßiges Sieden zu erreichen, leitete ich durch die Kapillare C gereinigten Stickstoff ein. Durch das Aufsteigen der Gasblasen im Kolben A sollte ein Siedeverzug verhindert werden. Durch diese Anordnung wurde zwar ein ruhiges Sieden erreicht, jedoch blieb die Schaumbildung im Kochkolben nach wie vor zu stark. Auch ein Zusatz von Paraffin im Kochkolben führte nicht zum Ziel. Da das Schäumen in erster Linie auf die Eiweißkörper zurückzuführen ist, mußte ich deshalb dazu übergehen, der Fleischprobe im Kochkolben ein Eiweißfällungsmittel zuzusetzen. Da der Zusatz von Gerbsäure unwirksam war, prüfte ich den Einfluß eines Zusatzes von dialysierter Eisenoxydlösung. Dieser Weg führte zum Ziel. Das Schäumen konnte durch Zusatz von 5 ccm Eisenoxydlösung fast völlig unterbunden werden.

Im Destillat wurden die übergegangenn reduzierenden Stoffe bestimmt. Da hier große Mengen flüchtiger Stoffe auftreten, mußte ich, im Gegensatz zu A. Tenner eine n/10 $KMnO_4$-Lösung anwenden. Da schon das Kochen der $KMnO_4$-Lösung allein oder mit doppelt destilliertem Wasser einen Permanganatverbrauch ergab, mußte besonderer Wert auf die Bereitung der Lösung gelegt werden. Um alle Einflüsse von außen bei einem späteren Zusatz von Schwefelsäure bei der Bestimmung selbst auszuschließen, wurde die $KMnO_4$-Lösung schon gebrauchsfertig hergestellt, indem ich auf 1 l Lösung 40 ccm konzentrierte Schwefelsäure zusetzte. Diese Mischung kochte ich 1/2 Stunde am Rückflußkühler und filtrierte sie durch einen ausgeglühten Asbestfiltertiegel. Da durch diese Behandlung ein Teil des Kaliumpermanganats zersetzt wurde, mußte, um eine Lösung zu erhalten, die annähernd einen Faktor von 1 hatte, ein Drittel mehr $KMnO_4$, als theoretisch notwendig war, zugesetzt werden. Die erhaltene Lösung wurde kühl und dunkel aufbewahrt. Ihr Faktor wurde bei jedem Versuch neu bestimmt.

Die Versuche werden also folgendermaßen ausgeführt:

10 g des gut durchgemischten gemahlenen Fleisches werden in den Kochkolben auf einer gewöhnlichen Waage genau eingewogen und dazu 20 ccm doppelt destilliertes Wasser gegeben. Diese Mischung läßt man 1/2 Stunde stehen. Nun setzt man 5 ccm dialysierte Eisenoxydlösung (Liq. ferri oxydati dialysati, Merck) hinzu und spannt den Kolben in die Apparatur ein. Bei einer Erwärmung des Kochkolbens mit ganz kleiner Flamme werden mit Wasserdampf 30 ccm in 15 Minuten in einen

vorgelegten 50 ccm-Meßzylinder abdestilliert. Das Destillat gibt man in einen 200 ccm-Erlenmeyerkolben, auf dessen Boden zur Verhinderung des Siedeverzuges eine kleine „Tonlinse" eingeschmolzen ist. Dem Destillat werden 10 ccm, bei stärker zersetzten Fleischproben 20 ccm n/10 schwefelsaure $KMnO_4$-Lösung zugesetzt. Diese Mischung wird 10 Minuten lang zum gelinden Sieden erhitzt. Als Verschluß des Kolbens dient eine Glasbirne, die als Rückflußkühler wirkt.

Zu der heißen Mischung gibt man sofort die der angewandten Menge Permanganat entsprechende Menge n/10 Oxalsäurelösung, sodaß wieder Entfärbung eintritt. Nun wird mit n/10 Permanganat bis auf eine schwache Rosafärbung zurücktitriert. In der noch heißen Mischung stellt man anschließend den Faktor der Permanganatlösung fest, indem man 10 ccm n/10 Oxalsäure zulaufen läßt und mit der verwendeten $KMnO_4$-Lösung auf denselben Farbton zurücktitriert.

Um den Permanganatverbrauch zu berechnen, multipliziert man die vorgelegte und die zum Zurücktitrieren verbrauchte Menge $MKnO_4$-Lösung mit dem Faktor und zieht von dieser Zahl die zugegebene Menge n/10 Oxalsäure ab. Die restliche Menge n/10 Permanganat war also von den im Destillat vorhandenen organischen Stoffen verbraucht worden.

B e i s p i e l : 30 ccm Destillat werden mit 10 ccm etwa n/10 $KMnO_4$-Lösung versetzt und gekocht. Zu der heißen Mischung werden 10 ccm n/10 Oxalsäure gegeben, die einen Faktor von 1 hat. Die entfärbte Lösung wird mit der etwa n/10 $KMnO_4$-Lösung bis zur eben auftretenden Rosafärbung titriert. Dazu werden 1,15 ccm verbraucht. Als Faktor wird 0,909 festgestellt. Verbraucht wurden also

	10,00	ccm	$KMnO_4$-Lösung	
+	3,15	„	„	„
=	13,15	„	„	„ .

Multipliziert mit dem Faktor ergibt sich die verbrauchte Menge n/10 $KMnO_4$-Lösung: 13,15 × 0,909 = 11,95 ccm. Von den 11,95 ccm n/10 Permanganatlösung muß man die 10 ccm, die den 10 ccm der zugegebenen Oxalsäure entsprechen, abziehen.

	11,95	ccm	n/10	$KMnO_4$-Lösung		
—	10,00	„	„	„	„	(entsprechend 10 ccm n/10 Oxalsäure)
=	1,95	„	„	„	„	

Der Rest von 1,95 ccm stellt die für die überdestillierten organischen Stoffe verbrauchte Menge n/10 Permanganatlösung dar.

Die so erhaltenen Zahlen konnten nicht ohne weiteres verwendet werden, da ja das Fleisch bei der Aufbewahrung einen Wasserverlust erleidet und deshalb keine vergleichbaren Werte erhalten werden. Da die Oxydationszahlen in erster Linie auf die Zersetzungsprodukte des Ei-

weißes zurückzuführen sind, so ist es zweckmäßig, sie auf fettfreie Trockensubstanz umzurechnen.

Wenn wir also für 10 g Fleisch einen $KMnO_4$-Verbrauch von 1,95 hatten, und das Fleisch 68% Wasser und 12% Fett enthielt, so ergab sich folgende Rechnung:

Für 10 g Fleisch verbraucht 1,95 ccm n/10 $KMnO_4$-Lösung
„ 100 g „ „ 19,50 „ „

In 100 g Fleisch sind 20 g fettfreie Trockensubstanz enthalten. Also verbrauchen 100 g fettfreie Trockensubstanz:

$$\frac{19,5 \times 100}{20} = 97,5 \text{ ccm n/10 Permanganatlösung.}$$

Der auf diese Weise ermittelte $KMnO_4$-Verbrauch bedeutet bei den Versuchen mit Fleisch und auch bei den anschließenden mit Wurst die Oxydationszahl. Die Ergebnisse bei einigen der angestellten Versuche s. Tab. 1.

Bei den angegebenen Versuchsreihen wurde neben der Oxydationszahl auch die Wasserstoffionenkonzentration ermittelt. Zu dieser Bestimmung wurden 10 g der gut zerkleinerten und durchgemischten Fleischprobe ½ Stunde mit 20 ccm doppelt destilliertem Wasser ausgezogen. Diese Mischung filtrierte ich durch ein Faltenfilter, sodaß ein möglichst klares Filtrat entstand. Von diesem wurde die Wasserstoffionenkonzentration ermittelt. Die hierfür gefundenen Werte finden sich ebenfalls in der Tabelle 1.

Zur p_H-Messung wurde die Gerbersche Apparatur nach Roeder benutzt. Sie beruht auf dem Vergleich einer Standardlösung mit der zu untersuchenden Lösung. Beide Flüssigkeiten werden mit Chinhydron versetzt und mit einem Agarheber verbunden. Ein Quecksilbergalvanometer dient als Stromanzeiger. Man gibt zu der Vergleichsflüssigkeit so viel Natronlauge, bis der Quecksilberfaden keinen Ausschlag mehr zeigt. Aus der Menge der verbrauchten Natronlauge und dem festliegenden Wert der angewandten Standardlösung kann das p_H berechnet werden.

Tabelle 1.

Versuch	Alter des Fleisches in Tagen	Beschaffenheit des Fleisches	$KMnO_4$-Verbr. auf 100 g fettfr. Tr.-subst.	p_H
I	1	frisch	9,6	6,18
	2	schweißig	60,7	6,4
	3	faulig	77,8	6,58
II	1	frisch	9,6	6,18
	2	schweißig	80,5	6,42
	3	faulig	93,4	6,6
III	1	frisch	19,7	6,2
	2	schweißig	68,0	6,48
	3	faulig	86,3	6,52
IV	1	frisch	19,7	6,2
	2	schweißig	49,7	6,4
	3	faulig	61,0	6,43
V	1	frisch	14,9	6,16
	2	nicht mehr frisch	29,4	6,3
	3	schweißig	89,5	6,48
	4	faulig	99,6	6,6
VI	1	frisch	14,9	6,16
	2	ganz schwach schweißig	36,4	6,29
	3	schweißig	74,9	6,53
	4	faulig	81,5	6,57
VII	1	frisch	16,01	6,18
	2	schweißig	63,4	6,32
	3	faulig	89,6	6,46
VIII	1	frisch	22,4	6,08
	2	schweißig	76,9	6,40
	3	faulig	84,5	6,56

Die Versuche I—VI wurden mit Ochsenfleisch ausgeführt, Versuch VII mit Kalb- und Versuch VIII mit Schweinefleisch. Die Aufbewahrungsarten waren bei den einzelnen Versuchen folgende:

Bei Versuch I wurde das Fleisch in offenem Glas bei 21° aufbewahrt, bei Versuch III, VII, und VIII offen bei 23—25°. Das Fleisch für Versuche II und IV wurde in geschlossenem Glas auf-

bewahrt, das erste bei 21°, das zweite bei 23—25°. Versuche V und VI wurden bei 8° ausgeführt, einmal mit (V) und einmal ohne (VI) Luftzutritt.

Die Tabelle zeigt folgende Ergebnisse:

Die Oxydationszahlen steigen beim Verderben des Fleisches stark an. Der Umschlagspunkt zwischen einwandfreiem und verdorbenem Fleisch liegt etwa bei 30, so daß man sagen kann: Oxydationszahlen bis 25 zeigen ein einwandfreies und frisches Fleisch an. Steigt die Zahl bis 30 oder liegt sie zwischen 30 und 40, so haben wir es mit einem Fleisch zu tun, das unter Umständen noch zum Genuß geeignet ist, das sich aber schon im Zustand einer beginnenden Fäulnis befindet. Oxydationszahlen über 40 finden sich bei Fleischproben, die schon stark zersetzt sind, bei denen also auch schon durch den Geruch eindeutig eine Veränderung und Zersetzung festzustellen ist.

Die Brauchbarkeit der Oxydationsmethode ist dadurch dargetan, daß die Oxydationszahl in dem kritischen Gebiet sprungweise ansteigt.

Die gefundenen p_H-Werte zeigen, daß die Wasserstoffionenkonzentration beim Verderben des Fleisches sich dem Neutralpunkt nähert. Bei den angegebenen Versuchen lag das p_H bei sämtlichen zersetzten Fleischproben über 6,2. Diesen Wert hatte auch Walkiewicz als Umschlagspunkt für frisches und zersetztes Fleisch angegeben. Jedoch läßt sich wegen dem nahen Zusammenliegen der Werte nur auf Grund des p_H eine Gütebestimmung des Fleisches nicht durchführen.

Bei einigen Versuchen wurden im Destillat qualitative Proben auf Ketone und Aldehyde ausgeführt. Auf Ketone wurde mit Salicylaldehyd geprüft, indem 1 ccm Destillat mit 0,2 ccm Salicylaldehyd versetzt wurde. Dazu wurden 3 ccm rauchende Salzsäure gegeben, gut durchgeschüttelt und bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Nach 1 Minute wurden 0,5 ccm Chloroform zugegeben und nochmals durchgeschüttelt. Bei Anwesenheit von Keton ist die Salicylaldehyd-Chloroformschicht rosarot bis rot gefärbt. Auf Aldehyde wurde mit der von Lea angegebenen Methode geprüft. 1 ccm Destillat wurde mit 1 ccm Schiffs Reagenz (Fuchsinschweflige Säure) versetzt und 1 Minute kräftig durchgeschüttelt. Bei Anwesenheit von Aldehyd tritt eine Blau-Violett-Färbung auf. Außerdem prüfte ich auf die Anwesenheit von Epihydrinaldehyd mit der Reaktion von Kreis-Täufel (20). Zu 5 ccm Destillat wurden 5 ccm rauchende Salzsäure gegeben, dann das Rohr mit einem Wattebausch verschlossen, auf dessen Unterseite vorher 0,5 ccm einer 1%igen ätherischen Phloroglucinlösung und 5 Tropfen verdünnter Salzsäure aufgetropft wurden. Nach vorsichtigem Schütteln färbt sich die Watte bei Anwesenheit von Epihydrinaldehyd rosa-violett.

Die Reaktion auf Ketone war immer mehr oder weniger stark positiv, die Probe auf Aldehyde immer negativ, desgleichen die Probe auf Epihydrinaldehyd. Da diese Stoffe hauptsächlich bei der Zersetzung des Fettes auftreten, ist anzunehmen, daß bei der Fleischfäulnis in der zu unseren Versuchen benötigten Zeit keine oder doch nur eine sehr geringe Zersetzung des Fleischfettes eingetreten war.

II. Anwendung der Oxydationsmethode bei der Untersuchung von Würsten.

Da die Oxydationsmethode bei Fleisch gute Werte ergeben hatte, sollte sie auch bei anderen Lebensmitteln angewendet werden. Bei verschiedenen Wurstwaren wurde versucht, eine beginnende Zersetzung mit Hilfe dieser Methode zu erkennen.

Der Versuchsanordnung stellten sich einige Schwierigkeiten entgegen. Einmal ist das Innere der Wurst durch die Wursthaut vor dem Eindringen der Bakterien geschützt, und zweitens trocknet die Wurst an dem angeschnittenen Teil sehr schnell ein, so daß auch von hier aus kein Verderben der ganzen Wurstmasse eintreten kann. Daher wird beim Liegenlassen eines größeren Wurststücks, vorausgesetzt daß die Wurst gut durchgekocht ist, stets nur an der Schnittstelle eine Zersetzung eintreten, während sich das Innere sehr lange frisch hält. Es ist deshalb schwierig, Durchschnittsproben der ganzen Wurst zu erhalten, wenn man nicht den Weg gehen will, die ganze Wurst zu zermahlen, um dann an dieser zerkleinerten Wurstmasse Versuche anzustellen. Um aber möglichst der Praxis nahezukommen, wurden einige größere Stücke der Wurst aufbewahrt und zu unseren Versuchen immer das erste Stück benutzt, das also am meisten der Wirkung der Bakterien ausgesetzt war und deshalb am stärksten verdorben war. Dabei wurde von dem Gedanken ausgegangen, daß ja eine Wurst als nicht mehr einwandfrei zu bezeichnen ist, wenn sie an irgend einer außenliegenden Stelle verdorben ist, auch wenn das Innere der Wurst noch völlig einwandfrei erscheint.

Ich untersuchte Fleisch-, Leber- und Blutwurst, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Zur Bestimmung wurde an der Schnittstelle der Wurst ein Stück abgeschnitten und dieses mit einem kurz ausgeglühten Messer in möglichst kleine Würfelchen zerschnitten. Genau 10 g dieser zerkleinerten Wurstmasse wurden auf einer gewöhnlichen Waage in den Kochkolben der bei der Untersuchung des Fleisches beschriebenen Apparatur eingewogen. Dazugesetzt wurden 20 ccm doppelt destilliertes Wasser und nach $^1/_2$ Stunde 5 ccm dialysierte Eisenoxydlösung. Nach kurzem Umschütteln wurde der Kolben in die Apparatur eingespannt und mit Wasserdampf 30 ccm abdestilliert. Die übergegangenen flüchtigen reduzierenden Stoffe wurden, wie im vori-

Tabelle 2.

Versuch	Alter d. Wurst in Tagen	Beschaffenheit der Wurst	$KMnO_4$ Verbr. auf 100 g fettfr. Tr.-substanz	p_H
a) Fleischwurst				
I	1	frisch	44,62	6,02
	2	„	44,62	6,04
	14	eingetrocknet Geruch ranzig	49,63	6,39
II	1	frisch	81,80	6,11
	2	„	78,09	—
	3	Haut angelaufen Geruch gut	91,05	6,12
	14	eingetrocknet verfärbt, Geruch ranzig	106,50	6,33
III	1	frisch	48,93	—
	2	„	50,62	—
	10	Geruch ranzig	56,24	—
b) Leberwurst				
IV	1	frisch	147,60	—
	2	Haut schmierig verfärbt, Geruch gut	146,70	—
	10	verdorben	158,90	—
V	1	frisch	143,40	—
	2	„	148,84	—
	5	schmierig, verfärbt	155,26	—
VI	1	frisch	142,2	—
	2	„	145,8	—
	8	verdorben	148,3	—
c) Blutwurst				
VII	1	frisch	43,35	—
	3	verfärbt, Haut angelauf.	54,53	—
	7	schmierig, verdorben	58,42	—
VIII	1	frisch	52,3	—
	2	„	54,6	—
	8	schmierig, eingetrockn., Geruch ranzig	62,2	—

gen Kapitel beschrieben, durch Titration mit n/10 $KMnO_4$ bestimmt. Der festgestellte Permanganatverbrauch wurde auf 100 g fettfreie Trockensubstanz umgerechnet.

Von der untersuchten Fleischwurst wurde die Wasserstoffionenkonzentration ermittelt. 10 g der gut zerkleinerten Wurst wurden mit 20 ccm doppelt destilliertem Wasser versetzt und 1/2 Stunde stehen gelassen. Die klar filtrierte Lösung wurde in der Gerberschen p_H-Apparatur, die oben beschrieben wurde, der p_H-Messung unterworfen.

Die Ergebnisse, die bei der Untersuchung der Wurst erhalten wurden, sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Versuche zeigen, daß man mit Hilfe der Oxydationsmethode den Verdorbenheitsgrad einer Wurst nicht feststellen kann. Erstens ist das Anwachsen des $KMnO_4$-Verbrauchs innerhalb eines Versuches zu gering, so daß gar kein Umschlagspunkt für frische und verdorbene Ware festgestellt werden kann. Zweitens aber sind die Werte für frische Wurst bei gleichen Sorten ganz verschieden. Anscheinend rühren die verschiedenen Werte von dem wechselnden Gewürzgehalt der Wurst her. Die angestellten p_H-Messungen bei der Fleischwurst zeigen, ähnlich wie beim Fleisch, ein Anwachsen der Werte von unter 6,2 bei frischer bis über 6,2 bei verdorbenen Würsten.

III. Anwendung der Oxydationsmethode bei Fischer.

Beim Fischfleisch ist der Nachweis einer beginnenden Zersetzung sehr wichtig, da sich im verdorbenen Fischfleisch Stoffe bilden, die mehr noch als beim Säugetierfleisch auf den menschlichen Organismus äußerst giftige Wirkungen ausüben.

Hauptsächlich J. Tillmans und R. Otto (15) hatten über den Nachweis einer beginnenden Fischfäulnis gearbeitet. In ihrer Arbeit stellten sie fest, daß der Abbau des Fischfleisches vollkommen anders verläuft als der des Säugetierfleisches. Die Verfasser können nämlich mit Hilfe der Bestimmung des Ammoniaks und des Aminosäurestickstoffs den Beginn der Fischfäulnis nachweisen, während diese Methode beim Säugetierfleisch versagt. Das Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks wird nach J. Tillmans und R. Otto so ausgeführt, daß das gut zerkleinerte Fischfleisch mit destilliertem Wasser zu einem gleichmäßigen Brei angerührt wird. Diese Masse wird 24 Stunden stehen gelassen und dann filtriert. Von einem Teil des Filtrats wird das Ammoniak im Vakuum abdestilliert und bestimmt. Bei der Bestimmung des Aminosäurestickstoffs gehen die Verfasser so vor, daß das wie oben hergestellte Filtrat mit Barythydrat alkalisch

gemacht und daraus das Ammoniak im Vakuum abdestilliert wird. Im Rückstand wird der Aminosäurestickstoff nach Grünhut bestimmt. Ein Fischfleisch, dessen Destillat mehr als 30 mg-% Ammoniak und mehr als 100 mg-% Aminosäurestickstoff enthält, soll nicht mehr als einwandfrei anzusehen sein. Die Nachteile der Methoden sind einmal die lange Zeitspanne, die zur Durchführung notwendig ist, und dann die etwas schwierige Vakuumdestillation, bei der das Schäumen der Fischfleischaufschwemmung besonders stört.

J. Tillmans und R. Otto führen noch ein anderes Verfahren an, das auf Beobachtungen von Willstädter und Waldschmidt-Leitz (21) beruht. Diese hatten festgestellt, daß Aminosäuren und Polypeptide in alkoholischer Lösung ihre amphotere Reaktion verlieren, da in alkoholischer Lösung die NH_2-Gruppen nicht hydrolysiert werden. Die Carboxylgruppe jedoch spaltet auch in alkoholischer Lösung Wasserstoffionen ab, so daß sich Aminosäuren und Polypeptide in alkoholischer Lösung mit Phenolphtalein titrieren lassen. Diese Tatsache machen sich J. Tillmans und R. Otto zunutze, indem sie durch doppelte Titration in alkoholischer und wässeriger Lösung eines Fischfleischauszuges die vorhandenen und in Lösung gegangenen Polypeptide und Aminosäuren bestimmen. Den Unterschied in dem Verbrauch an Natronlauge bei der alkoholischen und wässerigen Titration nennen die Verfasser die Differenzzahl. Wenn diese größer als 3 ist, soll sich das Fischfleisch im Zustand der beginnenden Fäulnis befinden. J. Tillmans und R. Otto stellen weiterhin fest, daß von den 3 biologischen Verfahren, der Bestimmung der Sauerstoffzehrung, der Salpeter- und der Methylenblaureduktion nur das erstere halbwegs brauchbar ist, und daß der Nachweis und die Bestimmung von Peptonen, Kohlensäure, Indol, gelöstem Stickstoff und Jodbindungsvermögen zu schwankenden oder negativen Ergebnissen führt.

Da mit der Oxydationsmethode beim Warmblüterfleisch gute Ergebnisse erzielt worden waren, sollte versucht werden, die Methode auch bei der Untersuchung von Seefischen anzuwenden, da besonders beim Fischfleisch die Aromastoffe besonders gut ausgeprägt sind.

Ich verwendete zu meinen Versuchen Fischstücke, die ich sofort von den Gräten befreite und dann unter Eis aufbewahrte. Zu jedem Versuch schnitt ich ein entsprechendes Stück ab und zerkleinerte es gut. Die gute Zerkleinerung ist sehr wichtig. Ich konnte feststellen, daß die Destillation schlecht zerkleinerter Fischstücke wesentlich kleinere Oxydationszahlen ergab als die von richtig zerkleinerten Proben. Die Kantenlänge der zerkleinerten Stücke durfte 0,5 cm nicht übersteigen.

Eine einwandfreie Destillation war nicht ohne weiteres durchzuführen, da starkes Schäumen eintrat und auch der Zusatz der dialy-

sierten Eisenoxydlösung, die ich beim Fleisch verwandte, nicht verhinderte, daß der Schaum mit in das Destillat überging. Nach Versuchen mit Zusätzen von flüssigem und festem Paraffin, die zu keinem Erfolg führten, fand ich als geeignet den Zusatz einer Gerbsäurelösung. Ich verwendete zuerst eine 0,6⁰/oige Lösung, später stellte ich fest, daß eine 1,2⁰/oige Lösung ihren Zweck besser erfüllt.

Man geht so vor, daß man 10 g gut zerkleinertes Fischfleisch in den Kochkolben der Destillierapparatur bringt und sofort 20 ccm 1,2⁰/oige Gerbsäurelösung dazugibt. Diese Mischung läßt man 1/2 Stunde stehen. Dann wird der Kochkolben in die Apparatur eingespannt und mit der Destillation begonnen. Dabei destilliert man ohne Erhitzen des Kochkolbens, bis etwa 10 ccm Destillat übergegangen sind. Dann wird die Schaumentwicklung geringer, und die Destillation kann unter Erhitzung des Kochkolbens mit kleiner Flamme schnell zu Ende geführt werden. Die erhaltenen 30 ccm Destillat werden, wie bei der Unter-

Tabelle 3.

Versuch	Alter d. Fisches in Tagen	Beschaffenheit des Fisches	$KMnO_4$-Verbr. auf 100 g Trockensubst.	p_H
a) Kabliau				
I	1	frisch	33,59	6,68
	2	„	35,63	6,92
	4	verdorben	69,84	7,46
II	1	frisch	38,92	—
	2	„	40,46	—
	3	verdorben	75,62	—
III	1	frisch	47,43	6,88
	3	Geruch etwas schweißig	54,51	7,02
	5	verdorben	79,17	7,69
b) Seelachs				
IV	1	frisch	41,56	6,78
	2	„	47,07	7,09
	3	verdorben, Geruch faulig	79,95	7,53
V	1	noch gut	50,60	7,34
	2	verdorben	62,41	7,68
c) Schellfisch				
VI	1	frisch	45,37	6,72
	2	„	46,92	6,96
	3	verdorben	66,18	7,42

suchung des Fleisches angegeben, mit n/10 $KMnO_4$ titriert. Der festgestellte Verbrauch an n/10 Permanganat wurde, abweichend von der Bestimmung der Oxydationszahl beim Säugetierfleisch, auf 100 g Trockensubstanz umgerechnet. Der Fettgehalt wurde nicht berücksichtigt, da er im allgemeinen so gering ist, daß er keinen Einfluß auf den Endwert hat.

Die bei der Untersuchung des Fischfleisches erhaltenen Werte sind in Tabelle 3 angegeben.

Die Werte zeigen, daß beim Fisch der Permanganatverbrauch einerseits für frische und andererseits auch für verdorbene Proben ziemlich konstant ist. Da der Fisch große Mengen Aromastoffe enthält, sind die Oxydationszahlen bei frischer Ware höher als beim Säugetierfleisch. Trotzdem die Spanne zwischen den Zahlen für frisches und verdorbenes Fischfleisch nicht so groß ist, wie beim Warmblüterfleisch, so reicht sie doch hin, um mit Hilfe der Permanganatmethode auf die Verdorbenheit einer Fischprobe schließen zu können. Es ist zu ersehen, daß alle frischen und einwandfreien Proben Werte zeigen, die unter 50 liegen. Der verhältnismäßig hohe Anfangswert bei Versuch V ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß der zur Untersuchung gelangende Fisch schon längere Zeit zu warm gelagert hatte, während die Fischstücke zu den übrigen Versuchen jeweils direkt vom Eis genommen wurden. Für die Richtigkeit der Annahme spricht auch die Tatsache, daß der Fisch schon am 2. Tag verdorben war. Ein Permanganatverbrauch über 50 deutet auf Verdorbenheit hin, und je größer der Wert ist, desto verdorbener ist das untersuchte Fischstück.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration wurde wie bei der Untersuchung des Fleisches angegeben ausgeführt. Es zeigte sich, daß das p_H von frischen Fischen immer im sauren Gebiet liegt, während alle zersetzten Proben ein p_H von über 7 hatten.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die Oxydationszahlen bei Fischen und auch die p_H-Messungen in Verbindung mit den Oxydationszahlen einen Schluß auf den Frischzustand von nicht konservierten Fischen zulassen. Ob sich die Methode auch auf geräucherte Fischwaren anwenden läßt, müßte noch geprüft werden.

IV. Nachweis verdorbener Fette durch Bestimmung der Oxydations- und Chlorzahlen.

Eine Methode zur Feststellung des Verdorbenheitsgrades bei Fetten und Oelen mit Hilfe der Permanganattitration hatte schon A. Tenner ausgearbeitet. Die Tenner-Methode beruht im Prinzip darauf, daß sich bei der Zersetzung der Fette wasserdampfflüchtige Abbauprodukte der Fettsäuren bilden, die durch Titration mit einer n/100

Permanganatlösung erfaßt werden. Es sollten nun einmal die von A. Tenner erhaltenen Werte nachgeprüft, zum zweiten noch eine andere Methode zur quantitativen Erfassung der mit Wasserdampf flüchtigen Stoffe ausgearbeitet werden.

Zunächst wurde die von A. Tenner angegebene Arbeitsweise etwas abgeändert, da ich feststellte, daß die Erhitzung des Kochkolbens von außen von großem Einfluß auf die Menge der übergehenden reduzierenden Stoffe war. Die Erwärmung des Kochkolbens war nie ganz gleichmäßig durchzuführen; da, vermutlich durch örtliche Ueberhitzung, Fehlerquellen entstanden, wurde ganz auf die Erhitzung des Kochkolbens von außen verzichtet, da sich auch zeigte, daß sich die Zeit zur Durchführung der Destillation nicht wesentlich verlängerte. Weiterhin war in der Tennerschen Arbeit ein Zusatz von gesättigter Kochsalzlösung zum Fett oder Oel vorgeschrieben. Dieser Zusatz sollte zur Temperaturerhöhung dienen. Ich konnte nachweisen, daß die Kochsalzlösung keinen Einfluß auf die Menge der übergehenden Stoffe hatte. Deshalb wurde bei den folgenden Versuchen ohne Zusatz der Kochsalzlösung destilliert.

In der Hälfte des erhaltenen Destillats wurden die reduzierenden Stoffe durch Titration mit Permanganatlösung bestimmt. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Fleisch usw. wurde hierzu eine n/100 $KMnO_4$-Lösung verwandt, da die Menge der flüchtigen Stoffe bei Fetten bedeutend geringer ist. Wie bei der Vorschrift zur Herstellung der n/10-$KMnO_4$-Lösung angegeben, wurde auch hier die angewandte etwa n/100-Lösung bei der Herstellung angesäuert (40 ccm konzentrierte Schwefelsäure auf 1 l Lösung), $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler gekocht und durch einen ausgeglühten Asbestfiltertiegel filtriert. Da aber durch diese Behandlung der n/100-Lösung nur ganz geringe Mengen Kaliumpermanganat zersetzt wurden, konnte zur Herstellung der Lösung die theoretische Menge $KMnO_4$ (0,33 g auf 1 l) angewandt werden, um einen Faktor von etwa 1 zu erhalten. Die erhaltenen Oxydationszahlen mußten verdoppelt werden, da ja die Werte mit den von A. Tenner erhaltenen verglichen werden sollten, und im Gegensatz zu A. Tenner, der von 30 ccm Destillat ausging, nur mit 15 ccm Destillat gearbeitet wurde.

Die zweite Hälfte des erhaltenen Destillats wurde nach der Chlorzahlmethode untersucht. Die aus den Fetten und Oelen abdestillierten reduzierenden Stoffe, die nach den bisherigen Untersuchungen (s. auch A. Tenner) zum größten Teil aus Ketonen, Aldehyden und niedermolekularen Fettsäuren bestehen, wurden bei der Permanganatmethode durch die zugegebene $KMnO_4$-Lösung oxydiert. Man kann aber auch die Menge der reduzierenden Stoffe bestimmen, indem man sie mit einer Natriumhypochloritlösung reagieren läßt und die verbrauchte Chlormenge quantitativ erfaßt. Die Natriumhypochloritlösung wirkt einmal

auf die mit Wasserdampf flüchtigen Stoffe oxydierend ein, diese bilden aber auch mit dem vorhandenen Chlor Substitutionsprodukte. Wegen dieser doppelten Wirkung werden die mit den zwei Methoden erhaltenen Werte keine Uebereinstimmung zeigen.

Arbeitsvorschriften für die beiden angegebenen Methoden bei Fetten und Oelen.

Auf einer gewöhnlichen Waage wiegt man genau 10 g Fett oder Oel in den Kochkolben der verwendeten Destillierapparatur ein und gibt 10 ccm doppelt destilliertes Wasser dazu. Der Kolben wird in die Apparatur eingespannt und die Wasserdampfentwicklung so geleitet, daß in etwa 15 Minuten 30 ccm Destillat übergehen. Als Vorlage dient ein 50 ccm-Maßzylinder. Das Destillat wurde geteilt und nach den beiden Verfahren untersucht.

1. Bestimmung der Oxydationszahl:

15 ccm des gut durchgemischten Destillates gibt man in einen Erlenmeyer, der zur Verhinderung des Siedeverzuges am Boden eine kleine Tonplatte eingeschmolzen hat. Dazu läßt man aus einer Bürette 10 ccm, bei stärker zersetzten Fetten 20 ccm der etwa n/100 Permanganatlösung laufen, deren Herstellung oben beschrieben wurde. Die Mischung wird 10 Minuten zum schwachen Sieden erhitzt und zu der heißen Flüssigkeit die der angewandten Menge n/100 $KMnO_4$-Lösung entsprechende Menge n/100 Oxalsäure gegeben. Die wieder entfärbte Lösung titriert man mit der etwa n/100 $KMnO_4$-Lösung auf eine schwache Rosafärbung. Anschließend stellt man den Faktor der etwa n/100 Permanganatlösung fest und berechnet nun, wie bei der Untersuchung des Fleisches für n/10 Permanganat angegeben, den Verbrauch an n/100 $KMnO_4$-Lösung. Durch Verdoppelung dieses Wertes erhält man die Oxydationszahl für Fette und Oele.

2. Bestimmung der Chlorzahl:

Der Rest des erhaltenen Destillats wird in einem Jodzahlkolben von 200 ccm Inhalt mit 20 ccm einer Natriumhypochloritlösung versetzt, die einer n/100 Thiosulfatlösung etwa äquivalent ist. Zu beachten ist, daß der Faktor der Natriumhypochloritlösung zwischen 0,9 und 1,1 liegen muß, da andernfalls ungenaue Werte erhalten werden. Zur Herstellung der etwa n/100-Lösung werden 0,45 ccm einer käuflichen „Natriumhypochloritlösung 25° Bé" auf 100 ccm verdünnt. Den Jodzahlkolben hängt man nun 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad ein. Danach kühlt man auf Zimmertemperatur ab und gibt in den Kolben 10 ccm 10%ige Kaliumjodidlösung und 5 ccm 25%ige Salzsäure. Der Kolben wird verschlossen und 2 Minuten im Dunkeln stehen gelassen. Dann wird der Jodüberschuß mit n/100 Natriumthiosulfatlösung mit Stärke

als Indikator wie üblich bestimmt. Anschließend an jeden Versuch wird ein Blindversuch ausgeführt. Dazu gibt man in einen Jodzahlkolben 20 ccm etwa n/100 Natriumhypochloritlösung und setzt sofort 10 ccm 10%ige Kaliumjodidlösung und 5 ccm 25%ige Salzsäure hinzu. Nachdem der verschlossene Kolben 2 Minuten im Dunkeln gestanden hat, wird wieder das ausgeschiedene Jod, wie vorher beschrieben, bestimmt. Die Differenz der im Haupt- und Blindversuch verbrauchten ccm Natriumthiosulfatlösung ergibt den Chlorverbrauch der im Destillat enthaltenen organischen Substanz. Die durch Verdoppelung dieses Wertes erhaltene Zahl wird in der vorliegenden Arbeit als Chlorzahl bezeichnet. Demnach gibt die Chlorzahl den Verbrauch an n/10 Natriumhypochloritlösung, bezogen auf das Gesamtdestillat von 100 g Fett an.

Beide Methoden, sowohl Permanganat- als auch Chlorzahlmethode, sind äußerst empfindlich. Die verwendeten Gefäße mußten absolut sauber sein. Die mit dem Fett direkt in Berührung kommenden Teile des Destillierapparats, der Kochkolben mit Aufsatz, wurden nach jedem Versuch einige Stunden mit rauchender Salpetersäure stehen gelassen. Dann wurde mit doppelt destilliertem Wasser gereinigt, der Kolben wieder in die Apparatur eingespannt und etwa 10 Minuten lang ohne Kühlung Wasserdampf durch den ganzen Apparat geleitet. Verschiedene Kontrollversuche, die mit dem kondensierten Wasserdampf ausgeführt wurden, zeigten, daß nach 10 Minuten keine reduzierenden Stoffe mehr im Wasserdampf enthalten waren. Alle anderen verwendeten Gefäße wurden vor jedem Versuch mit Bichromatschwefelsäure gereinigt.

Anschließend sind in Tabelle 4 die Werte zusammengestellt, die bei Fetten und Oelen mit der Permanganat- und Chlorzahlmethode erhalten wurden.

Tabelle 4.

Fett oder Oel	Geruch	Geschmack	Oxydationszahl	Chlorzahl
1. Erdnußöl, 4 Mon. alt	gut	gut	1,74	4,6
2. Erdnußöl raff.	gut	gut	1,46	5,2
3. Erdnußöl, 1½ J. alt	ranzig	ranzig	15,89	13,8
4. Erdnußöl, 1½ Jahre alt, v. d. Aubewahrg. 2 Std. belichtet	stark ranzig	ranzig	58,80	50,0
5. Mischöl, hauptsächlich Erdnußöl	gut	gut	1,80	3,2
6. Olivenöl	gut	gut	1,82	5,0

Fett oder Oel	Geruch	Geschmack	Oxydations-zahl	Chlorzahl
7. Olivenöl	stark ranzig	stark ranzig	45,38	45,6
8. Sojaöl, raff.	gut	gut	1,98	5,4
9. Sojaöl	gut	noch gut	3,36	4,6
10. Sesamöl	gut	gut	1,62	3,7
11. Rüböl	gut	gut	1,62	4,6
12. Rüböl	noch gut	ranzig, stark kratzend	9,40	10,2
13. Rüböl	ranzig	unangenehm	14,52	8,2
14. Schweineschmalz	gut	gut	1,48	5,2
15. Schweineschmalz	gut	noch gut	2,44	4,6
16. Schweineschmalz	schwach ranzig	schwach verdorben	4,36	8,4
17. Griebenschmalz	ranzig	ranzig	18,60	17,0
18. Schweineschmalz + Rinderfett	ranzig	ranzig	43,64	8,4
19. Schweineschmalz 1½ Jahre dunkel aufbew.	ranzig	ranzig	25,80	21,3
20. Schweineschmalz 1½ Jahre alt, vor der Aufbewahrung 2 Std. belichtet	stark ranzig	stark ranzig	39,40	31,7
21. Kokosfett, raff.	gut	gut	1,52	4,8
22. Tran, raff. gehärtet	gut	gut	1,44	6,0
23. Lebertran	gut	gut	7,08	8,2
24. Lebertran	ranzig	ranzig	33,04	26,1
25. Butterfett	gut	gut	1,54	5,4
26. Butterfett	schwach ranzig	ranzig	2,56	5,9
27. Butterfett	ranzig	ranzig	2,44	6,0
28. Butterfett, 1½ Jahre alt	stark ranzig	stark ranzig	8,74	14,0
29. Butterfett, 1½ Jahre alt, vor der Aufbewahrung 2 Std. belichtet	stark ranzig	stark ranzig	32,72	33,7

Die Betrachtung der Tabelle zeigt, daß alle Oxydationszahlen höher sind, als die von A. Tenner angegebenen. Jedoch liegen sie

bei allen frischen und einwandfreien Fetten nicht über 2. Die Chlorzahl dieser Fette liegt stets unter 6. Fette, die eine über 2 erhöhte Oxydationszahl zeigen, deren Chlorzahl aber unter 6 liegt, wie das Sojaöl Nr. 9 und das Schweineschmalz Nr. 15, sind nicht mehr als frisch zu bezeichnen, jedoch zum Genuß noch geeignet. Oxydationszahlen über 4 und Chlorzahlen über 6 finden sich bei Fetten und Oelen, die zersetzt sind, und die durch Geruch und Geschmack die Zersetzung einwandfrei erkennen lassen. Ausnahmen von diesen Zahlen machen Lebertran und Butter. Lebertran zeigt auch in frischem Zustande schon höhere Oxydations- und Chlorzahlen. Auch A. Tenner fand schon für Lebertran wesentlich höhere Oxydationszahlen als bei anderen Fetten. Diese Tatsache wird auf den Gehalt an stark ungesättigten Säuren (Clupanodonsäure) zurückzuführen sein. Da aber, wie A. Tenner schon festgestellt hatte, Lebertran durch Belichtung äußerst leicht zersetzt wird, besteht auch die Möglichkeit, daß die zur Untersuchung gelangende Probe schon mit Licht in Berührung gekommen war und sich dadurch flüchtige Stoffe gebildet hatten. Die Untersuchung der Butter führte ich so aus, daß nur das reine Butterfett destilliert wurde. Dazu wurde die Butter geschmolzen und filtriert. Die direkte Destillation der Butter liefert, wie A. Tenner festgestellt hatte, ungenaue Werte, da bei der Destillation, wie vorauszusehen ist, auch Milchsäure und flüchtige Eiweißverbindungen mit in das Destillat übergehen. Fett frischer Butter zeigt Oxydationszahlen unter 2, die Chlorzahlen liegen um 5. Beim Verderben der Butter steigen die Oxydationszahlen über 2 und die Chlorzahlen nähern sich 6 oder gehen darüber hinaus.

Bei der Destillation des Rüböls Nr. 13 war interessant, daß stets, auch bei vorsichtigster Erhitzung, Fettkügelchen mit in das Destillat übergingen, die auch wahrscheinlich die etwas abweichenden Zahlen bedingten. Es handelt sich dabei nicht um mitgerissene Fettkügelchen, sondern um Fett, das bei der Wasserdampfdestillation flüchtig ist. Das Rüböl Nr. 12, das dem Geruch nach noch gut war, aber einen stark kratzenden Geschmack hatte, zeigte eine abnorm hohe Verseifungszahl (196).

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß die von A. Tenner eingeführte Oxydationszahl, wie auch die von mir vorgeschlagene Chlorzahl sehr wohl geeignet sind, den Frischezustand eines Fettes zu bestimmen, wobei allerdings, soweit Lebertran und Butter in Frage kommt, auf die Art des Fettes Rücksicht zu nehmen ist.

C. Zusammenfassung.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte sein, eine Methode auszuarbeiten, die es gestattete, schnell und sicher die beginnende Zersetzung verschiedener Lebensmittel nachzuweisen. Als geeignet wurde die von A. Tenner für Fett angegebene Bestimmung der mit Wasserdampf flüchtigen Permanganat- bezw. Hypochloritlösung reduzierenden Stoffe gefunden. Diese Stoffe, deren Menge beim Verderben der Lebensmittel ansteigt, wurden durch Titration mit einer n/10, bzw. n/100 $KMnO_4$-Lösung quantitativ erfaßt, bei Fetten und Oelen außerdem durch Titration mit einer n/100 Natriumhypochloritlösung.

Die Methode wurde für verschiedene Lebensmittel angewandt und ausgearbeitet.

1. Fleisch:

Der für 10 g Fleisch erhaltene Verbrauch an n/10 $KMnO_4$-Lösung wurde auf 100 g fettfreie Trockensubstanz umgerechnet. Die so ermittelten Oxydationszahlen steigen beim Verderben des Fleisches stark an. Sie liegen bei frischem Fleisch unter 25, bei Fleisch im Zustand einer beginnenden Zersetzung steigern sie sich bis 40. Oxydationszahlen über 40 wurden bei stark verdorbenen Fleischproben gefunden.

2. Wurst:

Die Methode führte hier zu keinem Erfolg. Das Versagen lag darin begründet, daß die Oxydationszahlen beim Verderben nicht genug anstiegen, dann aber auch die Anfangswerte für frische Wurst bei verschiedenen Proben zu weit auseinander lagen. Letztere Tatsache ist auf den unterschiedlichen Gehalt der Würste an Gewürzen zurückzuführen. Hinzu kommt, daß das Verderben beim Aufbewahren der Wurst dadurch verzögert wird, daß sich an den Schnittflächen durch Eintrocknen eine Schutzschicht bildet, die unter Umständen das Verderben der Wurst verzögert.

3. Fisch:

Hier konnte die Methode zur Ermittlung des Verdorbenheitsgrades angewandt werden. Die Oxydationszahlen bei frischen Fischen liegen unter 50. Je weiter die Zahlen über 50 ansteigen, um so verdorbener ist die untersuchte Probe. Zu bemerken ist noch, daß die Oxydationszahlen bei Fisch sich durch Umrechnung des Permanganatverbrauchs auf 100 g Trockensubstanz ergeben.

4. Fett.

Weiterhin wurden die von A. Tenner mit der besprochenen Methode erhaltenen Zahlen für Fette und Oele nachgeprüft und ein neues Verfahren zur Bestimmung der flüchtigen Stoffe in Fetten und Oelen ausgearbeitet. Bei diesem Verfahren wurden die überdestillierten reduzierenden Stoffe mit einer Hypochloritlösung (Javellescher Lauge) titriert. Aus den Beziehungen zwischen den so erhaltenen Chlorzahlen und den Oydationszahlen lassen sich Schlüsse ziehen auf den Frischezustand von Fetten und Oelen.

Die bei Fleisch und Wurst angestellten p_H-Bestimmungen zeigten, daß bei frischer Ware das p_H stets unter 6,2 liegt und sich beim Verderben dem Neutralpunkt nähert.

Die Wasserstoffionenkonzentration bei Fischen lag bei frischer Ware im sauren Gebiet und stieg bei der Fäulnis an bis 7 und darüber hinaus.

Literaturverzeichnis.

(1) Vereinbar. z. Unters. u. Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln, 1897, H. **1**, 34.
(2) J. König: Chemie der menschl. Nahrungs- und Genußmittel, **II**, 437.
(3) C. Mai: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1901, **4**, 18.
(4) J. Tillmans u. H. Mildner: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1916, **32**, 65.
(5) R. Herzner: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1926, **52**, 215.
(6) Wolff: Beitr. z. chem. Physiologie u. Pathologie **4**, 254.
(7) O. Fürth u. E. Lenk: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel 1912, **24**, 189.
(8) Chodat: Arch. d. Sciences physiques et natur. 1912, **33**.
(9) J. Tillmans, R. Strohecker u. W. Schütze: Zeitschr. f. Untersuchung d. Lebensmittel 1921, **42**, 65.
(10) D. Ottolenghi: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1913, **26**, 728.
(11) H. Riffart: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1922, **44**, 225.
(12) J. Tillmans, P. Hirsch u. A. Kuhn: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel 1927, **53**, 44.
(13) Walkiewicz: Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 1936, **46**, 171.
(14) A. Zwilling: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1936, **72**, 148.
(15) J. Tillmans u. R. Otto: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1924, **47**, 25.
(16) Lea: Procead. Royal. Soc. London Ser. B 10, 1931, **10**, 175.
(17) Gangl u. Rumpel: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 1934, **68**, 539.
(18) A. Tenner: Inaugural-Dissertation Ffm. 1937.
(19) A. Grün: Analyse der Fette u. Wachse **I**, 337.
Issoglio, Giorn. Pharm. Chim. 1916, **65**
1917, **66**
(20) Kreis-Täufel: Zeitschrift für angewandte Chemie, 1931, **44**, 873.
(21) Willstädter, u. Waldschmidt-Leitz: Berichte Dtsch. Chem. Gesellschaft, 1921, **11**, 2988.

Die vorliegende Arbeit wurde im Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie, Frankfurt a. M., auf Anregung des derzeitigen Leiters,

Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker,

unternommen und durchgeführt. Ich erlaube mir, auch an dieser Stelle Herrn Dr. R. Strohecker, meinem hochverehrten Lehrer, sowie Herrn Dr. R. Vaubel für die jederzeit bereitwilligst erteilten wertvollen Ratschläge und das rege Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten, meinen herzlichen Dank zu sagen.

Lebenslauf.

Am 22. August 1912 wurde ich, Helmut Kirchberg, in Friedberg (Oberhessen) als Sohn des techn. Reichsbahnoberinspektors Wilhelm Kirchberg geboren. Nach dem Besuch der Mittelschule in Idstein (Taunus) trat ich 1926 in die Sachsenhäuser Oberrealschule in Frankfurt/Main über. Hier bestand ich 1930 die Reifeprüfung. Anschließend war ich bis 1932 als Praktikant und bis 1933 als Assistent in der Hof-Apotheke zum Mohren in Friedberg (Oberhessen) tätig. Im Sommersemester 1933 begann ich das pharmazeutische Studium an der Universität Frankfurt/Main und bestand im März 1935 das pharmazeutische Staatsexamen. Nachdem ich anschließend ein Semester organisch-präparativ in dem pharmazeutischen Institut in Frankfurt/Main gearbeitet hatte, begann ich im Dezember 1935 am Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie unter Leitung von Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker die vorliegende Arbeit.